

Gentian GCAL[®] Calprotectin Reagent Kit

REF 1201 és REF 1202

Laboratóriumi szakemberek általi *in vitro* diagnosztikai alkalmazásra.

Ez a dokumentum a fenti termék általános használatát ismerteti. A készüléke beállításához olvassa el a kérésre elérhető alkalmazásra vonatkozó megjegyzéseket: marketing@gentian.com.

Rendeltetészerű cél

A Gentian Calprotectin Immunoassay lítium-heparinos humán plazma- és szérummintákban található neutrofil eredetű fehérje, a kalprotectin *in vitro* mennyiségi meghatározására szolgáló immunturbidimetriás próba. A Gentian Calprotectin Immunoassay laboratóriumi szakemberek általi, automatizált klinikai elemző készülékekkel történő felhasználásra szolgál. Más laboratóriumi eredményekkel és klinikai vizsgálatokkal együtt a Gentian Calprotectin a gyulladás és a fertőzésre adott gyulladásos válasz kimutatására és értékelésére szolgál.

A próba összefoglalása és ismertetése

A kalprotectin egy 24 kDa molekulatömegű, heterodimer S100A8/A9 fehérje, amely két Ca²⁺-kötő fehérjéből, az S100A8-ból és az S100A9-ből (mieloid-rokon fehérje 8 és 14, MRP8 és MRP14) áll. A kalprotectin elsősorban a neutrofil sejtekben található, ahol a citoszol fehérjetartalmának mintegy 50%-át teszi ki [1]. A neutrofil granulociták a gyulladásra és a bakteriális fertőzésre egyik elsőként reagáló sejtek [3]. A kalprotectin aktivált neutrofil sejtekből szabadul fel, és ezt követően a fő biológiai hatásai az ionok szekvesztrációja [3], valamint a Toll-like receptor 4-hez (TLR4) és az Advanced Glycation Endproducts (RAGE) receptorhoz való kötődés, ami gyulladásos reakciót vált ki [1, 2, 4]. A kalprotectin koncentrációja órákon belül 100-szorosára emelkedik a vérben (baktériumokra vagy endotoxinokra reagálva [5]), és fontos gyulladásos markernek tekinthető [1, 2, 5-7].

A kalprotectin érzékenyebben jelzi a fagocita-aktiválódást, mint a hagyományos gyulladásos paraméterek [4]. Ennek következtében a mennyisége szorosan összefügg a különböző akut és krónikus betegségekben lejátszódó gyulladásos folyamatokkal, ezáltal ez a fehérje érzékeny paraméter a betegség aktivitásának, illetve a kezelésre adott válasz értékeléséhez az egyes betegeknel [4].

A kalibrátor standardizálása

A kalprotectin vonatkozásában nem áll rendelkezésre nemzetközi szabvány. Ezért a nyomonkövethetőséget az ISO 17511 5.6. pontjának megfelelően állapítják meg, ahol a legmagasabb mérési bemeneti szint a gyártó által kiválasztott mérési eljárás [20]. A kalibrátor visszavezethető egy nagy tisztaságú rekombináns kalprotectin oldatra, az UV₂₈₀-as teljes fehérje meghatározással és ismert extinkciós együtthatóval meghatározott értékkel. A kalibrálómátrixban lévő tiszta rekombináns anyagból álló munkakalibrátort a gyártó állandó mérési eljárásaival együtt használják a termékcalibrátorok értékének hozzárendelésére egy közzétett értékviteli protokollon keresztül. [8].

A próba elve

A Gentian Calprotectin Immunoassay egy szemcsékkel erősített turbidimetriás immunoassay (PETIA). A lítium-heparinos plazma- vagy szérummintát összekeverik a kalprotectin immunrézcskékkel. A mintából származó kalprotectin és az immunrézcskékből származó anti-kalprotectin antitestek aggregátumokat alkotnak, amelyek fokozzák az oldat turbiditását. A turbiditás mértéke arányos a kalprotectin koncentrációjával, amelyet egy megadott standard kalibrációs görbe alapján lehet számszerűsíteni.

A próba összetevői

A csomag tartalma	
Gentian GCAL [®] Calprotectin Reagent Kit	REF 1201
<ul style="list-style-type: none"> R1 Assay Buffer (54 mL) R2 Immunoparticles (9 mL) 	
Gentian GCAL [®] Calprotectin Reagent Kit S	REF 1202
<ul style="list-style-type: none"> R1 Assay Buffer (30 mL) R2 Immunoparticles (5 mL) 	
Egyéb elérhető termékek (a csomag nem tartalmazza)	
Gentian GCAL [®] Calprotectin Calibrator Kit (6 levels x 1 mL)	REF 1251
Gentian GCAL [®] Calprotectin Control Kit (2 levels x 1 mL)	REF 1219

Minden termék használatra kész.

Összetétel

- reakciós puffer (R1, 54 ml inaktív összetevő): Gentian Calprotectin Assay Buffer. Az R1 egy MOPS [3-(N-Morpholino)-propán-szulfonsav] puffereelt sóoldat, amely madárfehérjét és ProClin[®] 950 tartósítószer tartalmaz.
- reakciós puffer (R2, 9 ml hatóanyag): Gentian Calprotectin Immunoparticles. Az R2 egy humán kalprotectin elleni tisztított immunglobulin frakciót tartalmaz, amely kovalens módon kötődik a polisztirol nanorészecskékhez. Az oldat ProClin[®] 950-el van tartósítva.

A veszélyek azonosítása



Veszélyt jelző piktogramok (CLP):

GHS07

Jelzőző (CLP): Figyelmeztetés

Tartalmaz: 2-metil-izotiazol-3(2H)-on

Veszélyt jelző mondatok (CLP):

H317 - Allergiás bőrreakciót válthat ki.

Figyelmeztető mondatok (CLP):

- P280 - Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.
 P302+P352 - HA BŐRRE KERÜL: Lemosás bő vízzel és szappannal.
 P305+P351+P338 - SZEMBE KERÜLÉS esetén: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.
 P337+P313 - Ha a szemirritáció nem múlik el: orvosi ellátást kell kérni.
 P333+P313 - Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni.
 P362+P364 - A szennyezett ruhadarabot le kell vetni. A szennyezett ruhát újbóli használat előtt ki kell mosni.

Az SDS-ért (biztonsági adatlapért) forduljon a Gentianhoz a marketing@gentian.com címen.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

- Emberi vagy állati eredetű anyagokat tartalmaz, és potenciálisan fertőző anyagnak tekintendő. Óvatosan kell kezelni és a helyi előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.
- A MOPS/Tween (R1) és EDTA (R2) tartalmú reagensek irritálhatják a szemet, a légutakat és a bőrt. Kellő óvatossággal kell kezelni és nem szabad lenyelni.

3. Az R1 madárfehérjét tartalmaz. Az allergiás bőrreakció elkerülése érdekében kellő óvatossággal kell kezelni.
4. Az expozíció bőr- és szemirritációt okozhat.
5. Kerülje az érintkezést összeférhetetlen anyagokkal.
6. Kerülje a hő és a közvetlen napfény hatását.

További kezelési utasítások

1. Ez a próba kizárólag *in vitro* használatra szolgál, és csak laboratóriumi szakemberek kezelhetik.
2. Csak validált és jóváhagyott készülékalkalmazásokat használjon.
3. A lejáratú idő lejártá után ne használja a termékeket.
4. Különböző tételekből származó reagenseket ne keverjen össze, illetve ne cserélje fel a reagensek, kontrollok, kalibrátorok és eltérő tételek kupakjait.
5. A reagensek, kalibrátorok és kontrollok használata után a párolgás elkerülése érdekében gondosan szorítsa rájuk a kupakjukat.

A reagensek tárolása és stabilitása

A Gentian Calprotectin Immunoassay termékeket 2-8 °C-on kell tárolni. A lejáratú idő a címkékre van nyomtatva. A Gentian GCAL® Calprotectin Reagent Kit használatra vonatkozó stabilitását Architect c4000 (Abbott) készülékkel, a CLSI EP25 irányelve alapján végzett vizsgálattal legalább 4 hétben határozták meg [14].

A minták levétele és kezelése

A mintaanyaghoz lítium-heparinos plazma vagy szérum szükséges. A Gentian lítium-heparinos plazmaminták és nem zselés csövek használatát ajánlja. Javasoljuk, hogy a mintákon a lehető leghamarabb végezze el az elemzést. A szérumminták feldolgozása előtt 30 percet várni kell. A mintát a vér levételét követő 2 órán belül centrifugálni kell, és a plazma- vagy szérumfrakciót azonnal át kell önteni egy másik csöbe. Mindig csak zselés vagy nem zselés csöveket használjon, azokat ne keverje. A minta stabilitási vizsgálata azt mutatta, hogy a kalprotectin centrifugálás után 2-8 °C-on legalább 48 órán át stabil volt. A mintákat az elemzés előtt alaposan fel kell keverni.

Teljesítményjellemzők

Az eredmények a Gentian Calprotectin Immunoassay egy Architect c4000 (Abbott) készüléken végzett fő validálására vonatkoznak, 3 tételből származó reagensekkel, kontrollokkal és kalibrátorokkal, hacsak nincs máshogyan feltüntetve. A készülék-specifikus teljesítményjellemzőket lásd az adott készülékre vonatkozó alkalmazási megjegyzésekben.

Mérési tartomány

A Gentian Calprotectin Immunoassay mérési tartománya mind a lítium-heparinos, mind a szérumminták esetében körülbelül 0,4 - 20,3 mg/L, a biztonsági zóna pedig legfeljebb 95 mg/L. A pontos mérési tartomány a kalibrátorra és a készülékre jellemző, ezért kérjük, olvassa el a tételekre vonatkozó kalibrátorértékek analitikai értékeit (elérhető a www.gentian.com weboldalon), valamint az adott készülék alkalmazására vonatkozó megjegyzéseket.

Analitikai szenzitivitás

A Gentian Calprotectin Immunoassay analitikai szenzitivitását az EP17 CLSI irányelv alapján végzett vizsgálatban elemezték [15]. A mennyiségi határérték (LoQ) az analit megbízhatóan kimutatható legalacsonyabb koncentrációja, amelynél a teljes hiba megfelel a pontossági követelményeknek. Az LoQ értékét a lítium-heparinos plazmamintákban 0,31 mg/L-nek, a szérummintákban pedig 0,30 mg/L-nek határozták meg. A készülékre jellemző LoQ értéket lásd a készülék alkalmazására vonatkozó megjegyzésekben.

Pontosság

A Gentian Calprotectin Immunoassay teljes pontosságát egy EP05 CLSI irányelven alapuló vizsgálatban az 1 mg/L-nél nagyobb minták esetében <4,0 %-os CV-vel határozták meg [16]. A készülékre jellemző teljes pontosságot lásd a készülékre alkalmazására vonatkozó megjegyzésekben.

Analitikai specificitás és a termék alkalmazásának korlátai

A termékkel az EP07 CLSI irányelv szerint végzett vizsgálatban a vizsgált koncentrációk mellett nem észleltek interferenciát a hemoglobinnal, az intralipiddel, illetve a bilirubinnal [17]. A készülékre jellemző interferenciát lásd a készülék alkalmazására vonatkozó megjegyzésekben. A Sonntag és Scholer ajánlásai alapján tesztelt gyógyszerekkel sem észleltek interferenciát [9]. Mivel a Gentian Calprotectin Immunoassay madár eredetű antitesteket tartalmaz, ezért a mintákban a reumatóid faktor miatt nem lép fel interferencia [10]. Az MRP8, az MRP14 és az S100A12-vel szembeni keresztreaktivitást az EP07 CLSI irányelv alapján végzett vizsgálatban < 1%-osnak találták.

A módszerek összehasonlítása

A Gentian Calprotectin Immunoassayvel az Architect c4000 (Abbott) készüléken kapott eredményeket összehasonlították a IDK® Calprotectin ELISATest™ (Immundiagnostik) Multiskan 60 spektrofotométerrel (Thermo Fisher) kapott eredményeivel, egy EP09 CLSI irányelv alapján végzett, 1 tételre vonatkozó vizsgálatban [18]. Nemzetközi kalibrátorok, illetve referenciaeljárások hiányában csak az R² meghatározási együtthatót értékelték.

A minta típusa	n	A minták száma [mg/l]	R ² együttható
Li-Hep plazma	78	0,7 - 31,9	0,83
Szérum	99	0,6 - 27,8	0,89

A vizsgálati eljárás

Az alkalmazásra vonatkozó megjegyzések

A Gentian Calprotectin Immunoassay alkalmazását számos klinikai kémiai analizátoron is kipróbálták. Részletes, hitelesített alkalmazásra vonatkozó megjegyzések, amelyekben szerepel az egyes készülékekre való telepítés és az elemzés módja, kérésre elérhetők a marketing@gentian.com címen. Az új alkalmazás telepítésére vonatkozó útmutatásokért olvassa el a készülék kézikönyvét. A karbantartást, az üzemeltetést és az óvintézkedéseket az adott készülékre vonatkozó kézikönyvnek megfelelően kell elvégezni.

A reagensek előkészítése

A reagensek használatra készek. A reagenseket a kijelölt reagens pozícióba történő adagolása előtt óvatosan össze kell keverni. A reagensüvegek közvetlenül behelyezhetők a készülékbe, kivéve, ha az alkalmazási megjegyzésekben másként szerepel.

A kalibrációs görbe felvétele

Olvassa el a Gentian GCAL® Calprotectin Calibrator Kit (REF 1251) alábbi címen elérhető használati útmutatóját: www.gentian.com.

Mínőségellenőrző kontrollok

Olvassa el a Gentian GCAL® Calprotectin Control Kit (REF 1219) használatára vonatkozó utasításokat az alábbi címen: www.gentian.com.

Betegből származó minták vizsgálata

Ha fel van véve az érvényes kalibrációs görbe, és a kontrollértékek az érvényes tartományon belül vannak, akkor a mérés elvégezhető a lítium-heparinos plazma- vagy szérummintán. Ellenőrizze, hogy a mintatartó edényekben/csövekben a minimális mintatérfogat jelen van-e, és a mintákat a készülék kézikönyvében megadott utasítások szerint vizsgálják-e.

Eredmények

Az eredményeket a készülék a Gentian Calprotectin Immunoassayhez készült minden alkalmazással automatikusan kiszámítja. Az eredmények mg/L-ben jelennek meg.

Klinikai teljesítmény

A Gentian Calprotectin Immunoassay klinikai teljesítményét klinikai vizsgálatokban értékelték [11-13]. A specifikus határértékek és a klinikai teljesítményjellemzők összefoglalása az alábbi táblázatban található. A klinikai specifikációk, például a határértékek és a teljesítményjellemzők a minta és a betegség típusától függenek. Ezért javasolt, hogy minden laboratórium határozza meg a saját helyi határértékeit, mivel az értékek a mintatípus, a vizsgált populáció és a klinikai döntési pont függvényében változhatnak.

Havelka A, et al. Scientific reports. 2020 [11].

A bakteriális tüdőgyulladás és a vírusos légúti fertőzések elkülönítése

Paraméter	Érték	95%-os CI
Határérték [mg/L]	2,37	
ROC görbe alatti terület	0,775	[0,667; 0,861]
Szenzitivitás [%]	60	[44, 75]
Specifititás [%]	79	[63, 90]
LR+	2,9	[1,5; 5,6]
LR-	0,5	[0,3; 0,8]
PPV [%]	84*	
NPV [%]	53*	

Rövidítések: ROC: ROC (receiver operation curve) görbe, LR+: pozitív valószínűségi arány, LR-: negatív valószínűségi arány

*A vizsgálati mintákban a bakteriális fertőzések prevalenciáján alapul: 64% (71/(71+40))

A mycoplasma pneumonia és a vírusos légúti fertőzések elkülönítése

Paraméter	Érték	95%-os CI
Határérték [mg/L]	2,37	
ROC görbe alatti terület	0,883	[0,774; 0,952]
Szenzitivitás [%]	91	[71, 99]
Specifititás [%]	77	[67, 93]
LR+	3,9	[2,2; 7,1]
LR-	0,12	[0,03; 0,4]
PPV [%]	70*	
NPV [%]	93*	

Rövidítések: ROC: ROC (receiver operation curve) görbe, LR+: pozitív valószínűségi arány, LR-: negatív valószínűségi arány

*A vizsgálati mintákban a mycoplasma fertőzések prevalenciáján alapul: 38% (24/(24+40))

A vizsgálatban 279 vizsgálati alany vett részt (144 tünetmentes egészséges kontroll, 71 bakteriális fertőzésben, 24 mycoplasma fertőzésben és 40 vírusfertőzésben szenvedő beteg). A vizsgálat bevonási kritériumai a > 38 °C-os láz és a légúti fertőzés jeleinek és tüneteinek fennállása voltak.

A minta típusa: Lítium-heparinos plazma

Készülék: Mindray BS380

de Guadiana Romualdo LG, et al. J Infect. 2020 [12].

A COVID-19-ben szenvedő betegek halálzásának előrejelzése

Paraméter	Érték	95%-os CI
Határérték [mg/L]	3,9	
ROC görbe alatti terület	0,801	0,691; 0,894
Nem módosított OR arány	13,30	[1,53; 116]

Rövidítések: ROC: ROC (receiver operation curve) görbe, OR: esélyhányados

A vizsgálatba 66, igazolt SARS-CoV-2 fertőzéssel egymást követően kórházba került beteget vontak be. A 66 COVID-19-es beteg közül nyolc beteg halt meg a kórházi tartózkodás alatt, és kilencnek volt szüksége mechanikus lélegeztetésre.

A minta típusa: Szérum

Készülék: Roche Cobas c502

de Guadiana Romualdo LG, et al. Inflamm. Res. 2022 [13].

A mechanikus lélegeztetés szükségességének előrejelzése

Paraméter	Érték	95%-os CI
Határérték* [mg/L]	2,98	
ROC görbe alatti terület	0,723	[0,652; 0,790]
Szenzitivitás [%]	73,7	[60,3; 84,5]
Specifititás [%]	60,4	[54,9; 65,6]
PPV [%]	23,9	[17,8; 30,9]
NPV [%]	93,2	[89,0; 96,1]

Rövidítések: ROC: ROC (receiver operation curve) görbe

* Optimális határérték a Youden index szerint

A mechanikus lélegeztetés szükségességének kizárása

Paraméter	Érték	95%-os CI
Határérték* [mg/L]	2,23	
Szenzitivitás [%]	86,0	[74,2; 93,7]
NPV [%]	94,7	[89,7; 96,4]

Rövidítések: ROC: ROC (receiver operation curve) görbe

* Az invazív mechanikus lélegeztetés szükségességének kizárásához szükséges optimális határérték

Ebben a multicentrikus vizsgálatban 395, igazolt SARS-CoV-2 fertőzéssel egymást követően kórházba került beteg vett részt. A COVID-19-es betegek közül 57-nek volt szükséges invazív mechanikus lélegeztetésre.

A minta típusa: Szérum

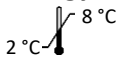
Készülék: Roche Cobas c702

Felső referencia-határ

A normál felnőtt populációban a kalprotektin várható értékeit egy C28 CLSI irányelv alapján végzett vizsgálatban, Cobas c501 (Roche) készülék alkalmazásával határozták meg [19]. A referenciaintervallumot látszólag egészséges alanyok populációjából határozták meg. Összesen 416 mintát vizsgáltak a 16 és 80 év közötti korosztályban (52%férfi, 48% nő). A felhasznált minták nem zselés és zselés lítium-heparinos csövekbe levett plazma- és szérumminták voltak (51 lítium-heparin nem zselés, 163 lítium-heparin zselés, 51 szérum nem zselés, 151 szérum zselés). A felső referencia-határt parametrikusan úgy határozták meg, hogy a lakosság felső 97,5 %-át képviselje. Ajánlott, hogy minden laboratórium határozzon meg saját helyi referencia-határértéket, mivel az értékek a vizsgált populációtól függően változhatnak.

A minta típusa	Érték
Li-Hep plazma, nem zselés	< 0,97 mg/l
Li-Hep plazma, zselés	<1,69 mg/l
Szérum, nem zselés	<1,41 mg/l
Szérum, zselés	< 1,75 mg/l

Jelmagyarázat



Hőmérsékleti határérték



Felhasználhatósági idő



Olvassa el a használati útmutatót



Gyártó



CE-jelölés a tanúsító testület számával



UKCA jel



Svájci meghatalmazott képviselő



In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz



Tételszám



Katalógusszám



Egyedi eszközazonosító



Tartalom



R1 próba puffer



R2 immunrészecskék



Figyelmeztetés



Bjornasveien 5
N-1596 Moss
Norvégia
TEL: +47 99 33 99 05
www.gentian.com



Képviselők

Felelős személy az Egyesült Királyságban

Emergo Consulting (UK) Limited
c/o Cr360 – UL International
Compass House, Vision Park Histon
Cambridge CB24 9BZ
Egyesült Királyság



MedEnvoy Switzerland
Gotthardstrasse 28
6302 Zug
Svájc

Irodalomjegyzék

1. Stríz I, Trebichavský I. *Physiol Res.* 2004;53(3):245-53.
2. Wang S, et al. *Front Immunol.* 2018;9:1298.
3. Teng TS, et al. *J Immunol Res.* 2017;2017:9671604.
4. Zackular JP, et al. *J Biol Chem.* 2015;290(31):18991-8.
5. Johne B, et al. *Mol Pathol.* 1997;50(3):113-23.
6. Pruenster M, et al. *Pharmacol Ther.* 2016;167:120-31.
7. Foell D, et al. *Clin Chim Acta.* 2004;344(1-2):37-51.
8. Blirup Jensen et al. *Clin Chem Lab Med* 2008;46(10):1470-1479
9. Sonntag O, Scholer A. *Ann Clin Biochem* 2001;38:376-85.
10. Larsson A, et al. *Poultry Science* 1993;72:1807-18
11. Havelka A, et al. *Scientific reports.* 2020;10(1):4208-.
12. de Guadiana Romualdo LG, et al. *J Infect.* 2020;S0163-4453(20)30543-0.
13. de Guadiana-Romualdo LG, et al. *Inflamm. Res.* 2022;71(1):57-67.
14. CLSI. Evaluation of Stability of In Vitro Diagnostic Reagents; Approved Guideline. CLSI document EP25-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
15. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute ;2012
16. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2014
17. CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry. 3rd ed. CLSI guideline EP07. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2018.
18. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. 3rd ed. CLSI guideline EP09c. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
19. CLSI. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document C28-A3c. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2008
20. EN ISO 17511:2021 In vitro diagnostic medical devices — Requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples. (ISO 17511:2020).

Súlyos események

Amennyiben az eszközzel kapcsolatban bármilyen súlyos eseményt tapasztal, akkor értesítse a gyártót és az illetékes hatóságot.

Az előző verzió módosításai

- Új klinikai teljesítményadatok 2022-től, 13. hivatkozás
- A tanúsító szervezet számával kiegészített CE-jelölés.
- Hozzáadott UKCA jel.
- A „Képviselők” fejezet hozzáadása.
- A CLSI 14-19 és az ISO 20 hivatkozások hozzáadása.
- A Figyelmeztetések és óvintézkedések 4-6. pontjának hozzáadása.
- Kisebbszerkesztési változtatások és korrekciók a dokumentumban.

Kiadás dátuma

2023-03-01